

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	萩 原 正 幸
主 論 文 題 名 Variant isoforms of CD44 involves acquisition of chemoresistance to cisplatin and has potential as a novel indicator for identifying a cisplatin-resistant population in urothelial cancer (CD44バリエーションアイソフォームはシスプラチン抵抗性の獲得に関与し、尿路上皮癌におけるシスプラチン耐性を同定する有効な指標となりうる)				
(内 容 の 要 旨) シスプラチン (CDDP) は転移、再発を有する尿路上皮癌患者に対する最も一般的に使用される薬剤であるが、その効果は耐性獲得により限定的であり、シスプラチン耐性獲得のメカニズムの解明は急務である。我々は治療抵抗性獲得に関与するとされる癌幹細胞マーカーCD44バリエーションアイソフォーム (CD44v8-10) に着目し、その尿路上皮癌のCDDP抵抗性獲得における機能を検証した。 1984年から2010年までに当院で浸潤性膀胱癌および上部尿路上皮癌に対し手術治療が行われ、その後に転移・再発しCDDPを含む化学療法を施行した77例を対象とし、CD44v8-10の免疫抗原を検出するCD44v9の免疫染色を行い、予後との関連について検討した。さらにヒト尿路上皮癌細胞株T24および当教室でT24を長期間CDDPに暴露することで樹立したCDDP耐性株 (T24PR) を用いてCD44v8-10の機能解析をした。殺細胞効果をWST assay、蛋白発現をウェスタンブロット法にて解析し、細胞内グルタチオン (GSH) およびROSはルミノメーターにより測定した。さらにsiRNAを用いてCD44v8-10をノックダウンし、その機能について確認した。 上部尿路上皮癌におけるCD44v9の報告を参考に標本組織中CD44v9発現5%以上をCD44v9陽性群とした結果、64例の症例でCD44v9陽性であった。CD44v9陽性群の5年癌特異的生存率は31.2%であり、陰性群の80.1%と比較し、有意に低かった ($p=0.008$)。多変量解析の結果、転移・再発を有しCDDPを含む化学療法を施行した浸潤性尿路上皮癌患者においてCD44v9陽性 ($p=0.024$, HR;5.16) は独立して癌死と関連した。 CDDPに対するIC50はT24PRにおいて19.3 μ M、T24において4.1 μ Mであり、明らかにT24で低かった。T24PRはT24と比較し、CD44v8-10発現の亢進を認めた。さらにCD44v8-10と相互作用することでその機能を亢進し治療抵抗性に関与するとされるxCTもT24PRにおいて発現の亢進を認めた。亢進したxCTの機能によりROSのスカベンジャーの一つとして機能する細胞内GSHはT24PRにおいて有意に増加を認めた ($p<0.001$)。またCDDP曝露によりT24において細胞内のROSの上昇を認めたが、T24PRでは確認されなかった。T24PRにおいてsiRNAを用いたCD44v8-10のノックダウンによりCD44v8-10およびxCTの発現低下、CDDPに対する殺細胞効果の回復を認めた。 CD44v8-10の尿路上皮癌における予後因子としての重要性、CDDP抵抗性の獲得への関与が確認された。CD44v8-10を標的とする治療戦略により、CDDP抵抗性尿路上皮癌に対する治療克服の可能性が示唆された。				